

GA₃ 对于芹菜种子休眠打破及 TDZ 对芹菜分化的影响

尤亚伟^{1,2}, 王玉珍¹, 李霞¹

(1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心, 河北 石家庄 050021; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:以芹菜为研究材料,研究了萌发,生长,分化,生根,培养条件等因素对组培苗的生长影响。结果表明:收获1年的芹菜种子,用10 mg/L GA₃浸泡12 h后,以0.1% HgCl₂消毒90 s,再播种于含10 mg/L GA₃的MS中,6 d后萌发,在20℃下14 d后萌发率可达到70%以上,28℃时萌发率明显降低;以MS为基本培养基;1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L TDZ使其分化率达到100%,30 d后平分化数达到5个;单独使用TDZ时,1.0 mg/L TDZ的综合效果最好;0.01 mg/L NAA下根的诱导率是100%,14 d后平均生根数达到7.2。培养条件以20℃为宜。

关键词:芹菜;休眠;GA₃;TDZ(Thidiazuron);组织培养

中图分类号:S636.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2007)增刊-0061-03

The Effect of Gibberellin(GA₃) on the Dormancy of Celery (*Apium graveolens* L.) and the Effect of TDZ on the Proliferation of Celery

YOU Ya-wei^{1,2}, WANG Yu-zhen¹, LI Xia¹

(1. Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050021, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: This study discussed the effect of Gibberellin(GA₃) on dormant celery seeds, and TDZ on proliferation of celery. The result showed that celery dipped in 10 mg/L GA₃ and plated on MS with 10 mg/L GA₃ performed better (more than 70% in 20℃) than these with no disposal on the germination. Temperature is another factor during germination, and in high temperature (> 25℃), the germination rate were restrained. Choose MS medium as the basic medium, with 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L TDZ, the differentiation rate reached 100%, and the shoot number achieved 5. With 0.01 mg/L NAA, the induce rate of roots achieved 100%, and the average roots per seedling reached 7.2.

Key words: Celery; Dormancy; Gibberellin(GA₃); TDZ(thidiazuron); Tissue Culture

作为一种常见的蔬菜,芹菜中富含维生素K,维生素C以及其他营养物质如 pthalides,对于高血压的治疗和癌症的预防有很好的功效。被 whfoods.org 誉为健康的蔬菜。但是其纤维素含量颇高,一直是影响芹菜口感的重要问题。现在市场上常见的西芹,玻璃脆等品种,虽然已经经过改良,但是纤维素含量依然很高,某些改良后的品种纤维素含量仍然高达21.3%。

关于芹菜的组织培养,1966年 Rcinert 等首次报道芹菜愈伤组织的形成,用的是MS无机和white培养基,含有0.23 μmol/L 2,4-D;1976年 Chen^[1]从幼叶外植体,Williams 等^[2]从幼叶柄外植体得到了植

株,主要激素是KT和2,4-D,1990年复旦大学李瑶等^[3]用芹菜单细胞培养再生植株。主要看来,在芹菜的组织培养技术是成熟的,外植体的选择多样化,如子叶、下胚轴等都可以很好地达到组织培养和快繁的效果。

可以说,在芹菜的组织培养技术上,已经比较成熟了,这为芹菜转基因后的组织培养奠定了良好的基础。但是,国内外如今关于芹菜的研究集中于现有品种的杂交优化和培育,却鲜见有转基因芹菜的报道。1992年遗传所王慧中等^[4]报道了将卡那霉素抗性基因导入芹菜细胞,用的是根癌农杆菌感染无菌苗的子叶和下胚轴,得到了转基因的愈伤组织;

收稿日期:2007-04-20

作者简介:尤亚伟(1982-),男,江苏南京人,硕士,主要从事植物基因工程研究

通讯作者:王玉珍(1955-),女,河北保定人,副研究员,主要从事植物基因工程研究。

1996 年华中师范大学郑世学等^[5]利用根癌农杆菌感染芹菜胚性愈伤组织,将氯霉素抗性基因导入芹菜细胞中,并得到了畸形苗。2007 年 Sink K C^[6]报道了用下胚轴作为转化受体的转化比率高达 18%。以芹菜的丛生芽为受体的报道未见。

关于芹菜种子萌发中的休眠^[7,8],以及 TDZ 在芹菜的组织培养以及转化的作用的研究,并未深入开展。本研究着重于改良芹菜的组织培养,以及转基因芹菜做转化材料受体的准备,并对上述问题做了探讨性的研究。

1 材料和方法

1.1 种子的萌发

收获 1 年的青县空心芹菜种子,两种处理 I 经 10 mg/L GA₃ 浸泡催熟 12 h, II 水摇 12 h, 之后 70% 酒精消毒 30 s, 0.1% HgCl₂ 消毒 90 s, 铺种于 A: MS; B: MS + 10 mg/L GA₃ 中, 置于 20, 28℃ 环境下, 统计首先萌发的时间, 14d 后统计萌发率。

1.2 基本培养基的选择

试验旨在提高芹菜的分化率。选择 MS 作为培养基, 主要试验了 6-BA, TDZ, KT, 2, 4-D 等激素的影响。都附加蔗糖 30 g/L, Agar 7.5 mg/L, pH 6.0 ~ 6.1。

1.3 培养条件和取材部位的选择

选择温度 15, 20, 28℃ 的环境下, 剪取幼株的茎, 腋芽茎段, 作为外植体。40 d 统计株高、分化数。

1.4 生根

选取生长条件合适的幼苗, 在附加 0.01 mg/L NAA 的 MS 进行生根。生根 15 d 后炼苗 3 d 就可以移栽到蛭石中。

2 结果与分析

2.1 萌发

2.1.1 赤霉素 GA₃ 的催熟作用 试验采用了两种不同的方法。从表 1 可以看出, GA₃ 对于收获 1 年的芹菜种子的萌发影响至关重要。利用一定浓度的 GA₃ 浸泡种子, 消毒之后铺种于含有 GA₃ 的 MS 培养基中, 能很明显的加快萌发时间, 提高萌发效率。

2.1.2 赤霉素对于幼苗的生长促进作用 从图 1 可以看出, GA₃ 对于芹菜幼苗的生长有比较明显的促进作用。5 mg/L 的促进作用最为明显, 接近 100%。

2.1.3 温度对于萌发率的影响 从图 2 可以看出, 高温对于芹菜的萌发是有限制作用的。28℃ 下 16 d 后的萌发率还不到 20%。一般选取 20℃ 为萌发温度。

表 1 不同处理下的芹菜种子出现萌发的时间比较(20℃)

Tab.1 Compare of celery seeds germination time at different treatment

处理	出现萌发的时间 (播种后)	14 d 后萌发率/%
I	8	17.8
II	6	60.2
III	8	31.1
IV	6	72.3

注: I. 水摇后播种于 MS 上; II. 水摇后播种于 MS + 10 mg/L GA₃; III. 用 10 mg/L GA₃ 震荡 12 h 后播种于 MS 上; IV 用 10 mg/L GA₃ 震荡 12 h 后播种于 MS + 10 mg/L GA₃ 上

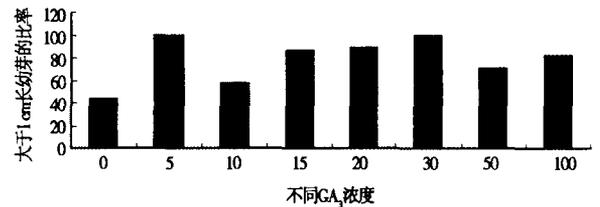


图 1 播种后 14 d GA₃ 浓度对于幼苗长度的影响

Fig.1 The effect of GA₃ content to young sprout length

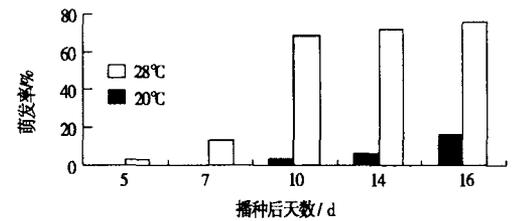
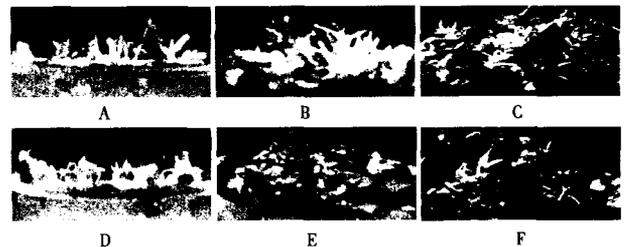


图 2 在 20, 28℃ 下的芹菜的萌发比较

Fig.2 Compare of celery germination at 20 and 28℃

2.2 TDZ 对于幼芽的分化促进作用

幼芽移入含有 6-BA 的 MS 中, 能够促进其变粗, 生长。添加 TDZ 能够促进其分化(图 3)。



A, B, C 为 0.5 mg/L TDZ 中生长情况; D, E, F 为在 1 mg/L 6-BA 中的生长情况。

图 3 TDZ 与 BA 单独作用时对芹菜生长的影响

Fig.3 The effect of TDZ and BA on celery growth respectively

2.3 芹菜的生长

主要选择了 BA, TDZ, ZT 等激素。20 d 一次迭代。每 20 d 统计情况(图 3, 4)。

2.4 芹菜的生根

生根培养基选择了 1/2 MS, 含有 MS + 0.01 mg/L NAA, MS + 0.1 mg/L NAA 情况, 如表 4 所示。

表 2 TDZ 与 BA 对芹菜的生长分化的影响

Tab.2 The effect of TDZ and BA on celery growth and proliferation (激素单位:mg/L)

培养 1 (25 d)	培养 2 (25 d)	平均 芽高/cm	平均分化 芽数/个
0.5TDZ	0.5TDZ	0.81	3.00
	1.0TDZ	0.79	3.33
	1.0BA	1.05	1.75
1.0BA	0.5TDZ	1.32	4.22
	1.0TDZ	1.50	4.42
	1.0BA	1.98	2.75

表 3 单独使用 TDZ 15d 芹菜的分化情况

Tab.3 Celery proliferation condition 15 d after choose TDZ

TDZ 浓度 /(mg/L)	平均 芽高/cm	玻璃化 比率/%	平均分 化芽数
0.5	0.72	6.1	2.83
1.0	0.80	5.3	3.12
2.0	0.76	30.2	4.22
2.5	0.85	42.1	4.08

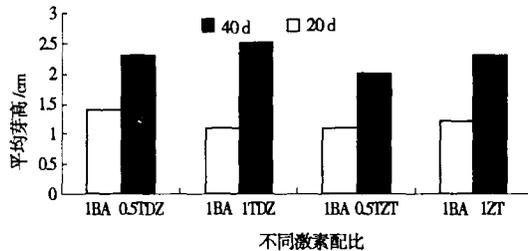


图 3 不同激素配比对于芹菜芽高度的影响

Fig.3 The effect of different hormone ratio to celery height

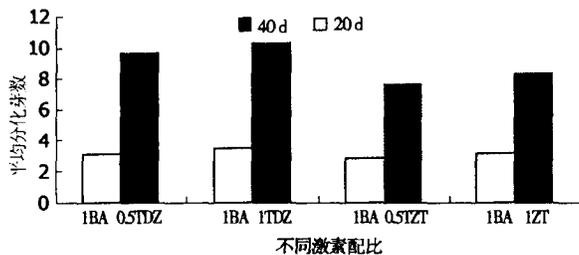


图 4 不同激素配比对于芹菜的分化影响

Fig.4 The effect of different hormone ratio to celery proliferation

表 4 芹菜的生根情况

Tab.4 Celery rooting condition

不同培养基	14 d 后生 根率/%	14 d 后 平均生根数/个
1/2MS	75	2.4
MS + 0.01NAA	100	7.2
MS + 0.1NAA	100	2.6

3 结论与讨论

芹菜的种子在收获后高温一段时间以后会出现休眠的情况。关于休眠打破传统的办法就是用 GA₃ 浸泡后播种。但是我们在试验中发现,GA₃ 浸泡过后的芹菜种子直接播种在含有 GA₃ 的 MS 培养基上能够很大程度上提高萌发率。另外,在研究中我们发现,芹菜萌发不适宜在过高的温度中(大于 25℃)进行,原因可能是过高的温度导致其休眠^[6,7]。

芹菜的组织培养前人做了很多研究,但是关于激素 TDZ 的调控却不是很多。通过试验我们发现,TDZ 的调控作用不亚于传统的 KT,ZT 等激素,而且在丛生芽的诱导上,1.0 mg/L 的 TDZ 具有很强的诱导能力,这为芹菜的转化提供了良好的受体来源。有可能打破芹菜转化中出现的过于依赖叶,下胚轴等转化途径^[3-5]。

参考文献:

- [1] Chen C H. Vegetative propagation of the celery plant by tissue culture[J]. Proc South Dakota Acad Sci, 1976, 55: 44 - 48.
- [2] Williams L, Collin H A. Growth and Cytology of Celery Plants Derived from Tissue Cultures[J]. Ann Bot, 1976, 40: 32 - 35.
- [3] 李 瑶, 沈大稜, 倪德祥. 芹菜单细胞培养再生植株[J]. 复旦学报, 1990, 29(4): 380 - 387.
- [4] 王慧中, 杜立群, 李安生, 等. 芹菜愈伤组织转化的研究[J]. 浙江农业大学学报, 1992, 18(1): 45 - 48.
- [5] 郑世学, 董五辈, 李学宝. 芹菜愈伤组织转化的初步研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1996, 30(3): 327 - 328.
- [6] Guo-Qing Song, Loskutov A V, Sink K C. Highly efficient Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of celery (*Apium graveolens* L.) through somatic embryogenesis[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2007, 8.
- [7] Thomas T H. Enhancement by Low pH of Gibberellin Effects on Dormant Celery Seeds and Embryoless Half-Seeds of Barley. Physiologia Plantarum Vol. 37 August 1976.
- [8] Thomas Tudor. Is there a circadian germination response to red light in celery (*Apium graveolens* L.) seeds[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 37(1): 31 - 35.